le dépassent de beaucoup à présent. Les Cacaoyers ont fait comme les Guttas; ils sont bien plus jolis à 250 mètres qu'à 500 et surtout plus beaux qu'au littoral.

Il y a encore une erreur que j'ai constatée, c'est que si les Cacaoyers poussent magnifiquement jusqu'à 500 mètres seulement, ils mettent plus de temps à rapporter. Ce que je vous détaille ici n'est pas un effet de l'imagination, mais bien le résultat d'observations et de la mise en pratique des sujets qui m'intéressent à la Grande-Comore, et que l'on peut voir sur une plantation de plus de 200,000 pieds disposés depuis le littoral jusqu'à 500 mètres d'élévation.

Je pense que la Gutta arrivera à se cultiver dans ces conditions et que l'on pourra couper tous les ans, et peut-être deux fois par an, les jeunes pousses productrices du latex. L'arbre arrivera à former des souches, comme le font les Saules en France, car il me paraît très vigoureux.

J'attends que l'arbre rapporte des graines et je continuerai mes expériences par semis.

Il est fort regrettable que je n'aie jamais pu obtenir en France qu'on me confie quelques pieds de ce végétal si intéressant, car j'aurais pu faire des expériences plus sérieuses.

De la nécessité du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase,

par M. Gabriel Bertrand.

Il y a deux ans, j'ai indiqué dans ce *Bulletin*[1] comment on pouvait extraire du latex de l'arbre à laque un ferment soluble spécial ayant tous les caractères généraux des diastases, mais en différant toutefois par la propriété, alors nouvelle, de fixer directement l'oxygène de l'air sur certains corps organiques.

Depuis cette époque, la laccase est devenue le type de tout un groupe de ferments analogues, appelés *Oxydases*. J'ai retrouvé de ces ferments ans un grand nombre de plantes vertes appartenant à des familles différentes de Cryptogames et de Phanérogames, et, avec M. Bourquelot, chez les Champignons. D'autre part, on a signalé leur existence chez les Mammifères, les Poissons, les Crustacés, les Mollusques. C'est qu'en effet ces Oxydases ont une grande importance physiologique; ce sont elles qui président aux oxydations intra-organiques; qui interviennent, par conséquent, dans les phénomènes chimiques de la respiration, la production de l'énergie et la synthèse d'un grand nombre de principes immédiats. On a pu expliquer aussi, grâce à leur présence, les colorations très variées que certains Cham-

[1] *Bulletin du Muséum,* t. I, p. 134 (1895).

pignons prennent au contact de l'air, le brunissement des pommes et autres fruits, le vieillissement et la maladie du vin désignée sous le nom de *cassage*, etc.[1]. Aujourd'hui, elles vont nous faire comprendre l'utilité du manganèse chez les êtres vivants.

J'avais remarqué depuis longtemps, en étudiant la composition chimique de la laccase, que les cendres de ce ferment soluble renferment une proportion relativement élevée d'oxyde de manganèse; mais, comme cette observation ne présentait pas alors un intérêt immédiat, je n'avais pas effectué de dosage. Depuis, j'ai dû revenir sur ce point.

C'est en combinant l'emploi du colorimètre avec la réaction si sensible de Hoppe-Seyler, réaction qui consiste à transformer le manganèse en un magnifique corps violet, l'acide permanganique, que j'ai pu réussir, dans mes recherches, à apprécier le manganèse à quelques centièmes de milligrammes près.

J'ai trouvé ainsi, dans un mélange de gomme et de laccase, extrait de la laque annamite d'après un procédé antérieurement décrit, 1 milligr. 17 de manganèse pour 46 milligrammes de cendres, c'est-à-dire une proportion de métal voisine de 2 1/2 p. 100 du poids des cendres.

Cette laccase, dissoute dans l'eau et additionnée, en plusieurs fois, de quantités croissantes d'alcool, donne une série de précipités de composition et d'activité différentes. Or, en comparant entre eux les produits de ce fractionnement, j'ai observé que leur activité oxydante augmentait progressivement avec leur teneur en manganèse.

Ainsi le volume d'oxygène fixé, en une heure et demie, par 50 centimètres cubes de solution d'hydroquinone à 2 p. 100, en présence de 0 gr. 2 de produit sec, a été :

Avec l'échantillon n° 1........................... de	19^{cc} 1
— n° 2...........................	15 5
— n° 3...........................	10 6

tandis que les dosages de manganèse donnaient respectivement :

N° 1....................................	0,159 p. 100.
N° 2....................................	0,126
N° 3....................................	0,098

Cette relation curieuse n'est pas due au hasard. On peut, en effet, établir que l'activité de la laccase est liée à la présence du manganèse, et montrer que le ferment soluble est inactif en l'absence de cet élément.

Dans ce but, on prépare un échantillon de laccase exempt de manganèse

[1] Voir à ce sujet l'article d'ensemble que j'ai publié dans l'*Agenda du chimiste* pour l'année 1897.

ou tout au moins n'en renfermant que des traces. Et pour cela, un des meilleurs moyens est le suivant :

On triture quelques kilogrammes de luzerne ordinaire (*Medicago sativa* L.) immédiatement après la récolte, puis on presse et l'on abandonne le suc à lui-même jusqu'au lendemain. Pendant ce repos, il subit une coagulation partielle qui entraîne toutes les substances en suspension et le liquide surnageant filtre clair sans aucune difficulté. On l'additionne alors de 2 volumes et demi d'alcool : il se précipite des flocons volumineux, qu'on isole sur un filtre, qu'on lave à l'alcool faible, puis qu'on délaye dans un peu d'eau distillée. Il résulte de ce traitement une solution jaune-pâle, qu'on sépare des matières insolubilisées et qu'on précipite par un grand excès d'alcool fort. C'est le nouveau précipité, recueilli et desséché dans le vide, qui constitue le produit cherché. L'analyse y décèle moins de 1/50,000 de manganèse, la presque totalité du métal étant restée dans les liqueurs alcooliques.

C'est vraisemblement grâce à une composition chimique spéciale du suc cellulaire que cette préparation réussit. Avec d'autres plantes, même très voisines, comme le trèfle, la laccase obtenue est saturée de manganèse et impropre aux expériences qu'il me reste à décrire.

Quand on dissout un décigramme du ferment retiré de la luzerne dans 50 centimètres cubes de solution d'hydroquinone, on n'observe, même après 48 heures d'agitation continue au contact de l'air, qu'une coloration rougeâtre; au contraire, si l'on ajoute à la même solution un milligramme de manganèse (par exemple à l'état de sulfate), il suffit de deux heures environ pour voir apparaître les premiers cristaux de quinhydrone, témoins évidents de l'oxydation.

En outre, si on exécute ces expériences dans un ballon à robinet et qu'on mesure l'oxygène absorbé, on trouve, après 6 heures :

1° Avec le manganèse seul (expérience témoin)		$0^{cc}3$
2° Avec la laccase seule de la luzerne	1re expérience	0 2
	2e expérience	0 4 [1]
3° Avec la laccase additionnée de manganèse		6 3

Enfin, les mêmes expériences, reproduites avec un autre métal, montrent que le manganèse possède une action spécifique, qu'il ne peut être remplacé ni par le fer, ni par l'aluminium, le cérium, le cuivre, le zinc, le calcium, le magnésium ou le potassium.

Ces faits font ressortir l'importance physiologique du manganèse et définissent le rôle que remplit ce métal, au moins chez les végétaux. La

[1] Comme j'avais à mesurer, dans chaque expérience, près d'un demi-litre de gaz, en dix cloches, il ne faut pas regarder ces chiffres comme exacts à plus d'un ou deux dixièmes du centimètre cube près.

circonstance que le manganèse existe seulement en faible quantité chez les êtres vivants augmente d'ailleurs la portée de cette conclusion : elle dirige en effet l'attention sur toute une série de corps qui pouvaient passer jusqu'ici comme secondaires parce qu'ils sont peu abondants, comme le manganèse, et qu'on ignore leur signification physiologique. Par exemple : le zinc, illustré par l'expérience de Raulin; le bore, dont les recherches de Passerini et surtout de Jay ont démontré la présence si générale chez les les plantes, etc.

Mais ces faits comportent encore une autre conséquence. J'ai démontré, avec Mallèvre[1], que la pectase est incapable de transformer la pectine quand elle a été complètement débarrassée du calcium qui l'accompagne dans les sucs cellulaires; qu'en essayant de séparer ce ferment soluble du jus de carottes, à l'aide de l'alcool, on n'obtenait qu'un produit à peu près inerte, non seulement parce que l'alcool avait altéré en partie la substance organique, mais encore parce qu'il avait séparé celle-ci du principe minéral sans lequel elle est impuissante : il suffisait d'ajouter une trace d'un sel de calcium à la solution de pectase pour lui rendre son activité. Aujourd'hui, j'arrive à des résultats analogues avec la laccase. Si l'on veut bien maintenant rapprocher tous ces résultats de la théorie de la coagulation du sang, telle qu'elle a été proposée par Pekelharing; se rappeler aussi que la pepsine, la sucrase, l'amylase et d'autres ferments solubles n'agissent qu'en présence d'un acide, on verra se dégager de cet ensemble comme une notion nouvelle, qui doit être, à mon sens, généralisée.

Désormais, il faudra tenir compte, dans l'étude des ferments solubles, non seulement de la substance, organique et très altérable, à laquelle nous attachions jusqu'ici toute l'idée du ferment soluble, mais encore de celles, qu'on pourrait appeler *co-ferments,* — ici minérales, là peut-être organiques, — qui forment avec la première le système véritablement actif.

(1) *Bulletin du Muséum,* t. I, p. 295 (1895), et *Bull. Soc. chimique,* (3) t. XIII. p. 252.
